УДК 619:616-093/-098

Нурлыгаянова Г.А.
(Ставропольский государственный аграрный университет, Карачаево-Черкесская республиканская ветеринарная лаборатория)

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ И РАЗРЕШАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ РЕАКЦИИ ИМУНОДИФФУЗИИ В АГАРОВОМ ГЕЛЕ (РИД) ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Ключевые слова: бруцеллез, крупный рогатый скот, реакция иммунодиффузии в агаровом геле, серологическая диагностика, Карачаево-Черкесская Республика.

Введение. По мнению ученых, изучавших бруцеллез животных, диагностика болезни должна быть быстрой, своевременной, достоверной, разрешающей сомнения в дифференциации иммунологических проявлений и обеспечивающей возможность оперативной оценки эпизоотической ситуации [2,3]. В Российской Федерации в комплексной серологической диагностике бруцеллеза животных используется диагностикум для постановки реакции иммунодиффузии в агаровом геле с О-полисахаридным антигеном (РИД с О-ПС антигеном), разработанный профессором В. М. Чекишевым с соавторами (1993). Метод позволяет проводить прижизненную диагностику бруцеллеза, отличать поствакцинальные антитела от антител, образующихся при заражении животных «полевыми» культурами бруцелл [6].

Цель настоящей работы – изучить диагностическую ценность и разрешающую способность реакции иммунодиффузии с О-ПС антигеном (РИД) в условиях благополучия и неблагополучия хозяйств по бруцеллезу крупного рогатого скота Карачаево-Черкесской республики.

Методика исследования. Наши исследования были начаты в 1995 году после получения «Методических указаний по дифференциальной эпизоотической оценке стад крупного рогатого скота, привитого вакциной из штамма 82» и «Наставления по применению тест-системы для диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота», утв. начальником Департамента ветеринарии МСХиП РФ В.М. Авиловым 04.04.1995 г. № 12-7-2/270 и № 13-7-2/271. В настоящее время постановка и учет реакции осуществляются согласно наставлению по диагностике бруцеллеза животных, 2003 года и наставлению по применению тест-системы.

Результаты исследования. Всего в республике с 1995 года исследовано в реакции иммунодиффузии 76404 пробы сывороток крови крупного рогатого скота на бруцеллез из хозяйств с различным эпизоотическим статусом, реагировало положительно 11474 пробы или 15,0% к исследованным.

Многолетние наблюдения показали, что РИД может служить достаточно четким индикатором эпизоотической обстановки по бруцеллезу крупного рогатого скота. Так, к началу 2000-х годов ветеринарной службе республики удалось стабилизировать эпизоотическую обстановку по бруцеллезу крупного рогатого скота, количество неблагополучных пунктов сократилось до 1-2, количество положительно реагирующих в РИД не превышало 7,8%. Однако создание многочисленных малых форм хозяйствования и активное перемещение животных способствовали тому, что в течение 2002-2003 гг. эпизоотическая обстановка по бруцеллезу стала ухудшаться. Немаловажным фактором, способствовавшим этому, послужило и наводнение в июне 2002 года. Объявлены неблагополучными 3 населенных пункта и КФХ «Мамлюк» Хабезского района в течение 2003 года. Так, владелец крестьянско-фермерского хозяйства «Мамлюк», закупал дешевый по цене крупный рогатый скот без сопроводительных документов и исследований на бруцеллез, ветеринарных специалистов не информировал. Животные содержались совместно в одном гурте без учета пола и возраста. При первичном серологическом исследовании на бруцеллез положительно реагировали в высоких титрах РА и РСК 28,3%, в РИД – 12,5%, при повторном исследовании соответственно – 21,4% и 12,6%. Оздоровление крестьянско-фермерского хозяйства проведено методом полной ликвидации поголовья.

В последующие годы в республике чис-

ло неблагополучных пунктов по бруцеллезу крупного рогатого скота стало возрастать и на начало 2010 года достигло 15. Результаты проведенного анализа (см. табл. 1) позволили установить, что % положительно реагирующих в РИД также увеличился от 18,2 до 27,9 (23,1±1,2).

Ученые отмечают, что при широком использовании живых агглютиногенных и слабоагглютиногенных вакцин в благополучных стадах выявляются положительно реагирующих на бруцеллез животных в незначительном количестве (1%), что создает определенные сложности в эпизоотической оценке таких стад [1,5]. В условиях нашей республики мы также «столкнулись» с этой проблемой.

Таблица 1 – Динамика выявления положительно реагирующих на бруцеллез в РИД (2003-2012 гг.)

Показатели учета	Годы										M±m
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	
Исследовано, проб	4278	4306	2771	2503	3194	3200	2153	2594	2947	2996	3094,2±217,5
Реагировало положит., проб	779	806	712	510	665	741	592	615	824	743	698,7±34,5
% к исследованным	18,2	18,7	25,7	20,4	20,8	23,2	27,5	23,7	27,9	24,8	23,1±1,2

Для определения места и значения РИД в системе противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота при применении вакцины из штамма B. abortus 82 изучили чувствительность РИД под контролем РА+РСК в благополучных и неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Диагностическая эффективность РИД в благополучном хозяйстве по бруцеллезу (СХА «Кубань» Прикубанского района)

Год исследования	Кол-во исслед., голов	Реагировало, в % к исследованным		
		РА-S	РСК-S	РИД
2003	243	0,4	2,1	0,8
2004	250	-	0,8	0,4
2005	192	0,5	2,6	0,5
2006	200	-	4,5	0,5
2007	176	1,7	2,3	0,6
2008	115	0,8	2,6	0,8
2010	96	1,0	-	-
2011	132	0,7	0,7	-
2012	100	-	-	-
Σ	1504			
Разрешающая способность, в %		18,2	65,9	15,9

Так, при проведении плановых серологических исследований крупного рогатого скота в колхозе «Кубань» Прикубанского района, выявлено положительно и сомнительно реагирующих на бруцеллез в РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном 8 и 29 проб соответственно или 0,5% и 1,9% к исследованным, в РИД реагировало положительно 7 проб или 0,5%. Следует указать, что с 2008 года в этом хозяйстве иммунизация животных вакциной из штамма-82 не проводится и в последующие годы все животные реагировали в РИД отрицательно.

Аналогичные данные получили и в колхозе «имени Кирова» Адыге-Хабльского района в 2003-2007 гг. при исследовании 791 пробы (в последующие годы хозяйство было расформировано). Например, в РА-S и РСК-S реагировало 8 и 35 проб соответственно, что составило 1,0% и 4,4% от общего числа исследованных. В РИД положительно реагировало 5 проб или 0,6% к исследованным, т.е. в 8,6 раза меньше, чем в классическом комплексе РА+РСК.

Разрешающая способность РА, РСК и РИД составила соответственно в колхозе «Кубань» 18,2%, 65,9% и 15,9%. В колхозе имени «Кирова» – 16,7%, 72,9% и 10,4% соответственно.

По нашему мнению, при применении вакцины из штамма B. abortus 82 имеет ме-

сто проявление положительной РИД менее 1% случаев, что не должно осложнять эпизоотический статус хозяйства.

Изучили диагностическую ценность и разрешающую способность РИД при исследовании 2037 проб сывороток крови из неблагополучных хозяйств. Для этого выбирали хозяйства и населенные пункты с максимальным количеством положительно и сомнительно реагирующих на бруцеллез.

Анализ показал, что в условиях неблагополучия хозяйств по бруцеллезу в комплексе РА+РСК положительно и сомнительно реагировала 461 проба или 22,6% к исследованным, в РИД – 142 пробы (6,9%), т. е. в 3,3 раза меньше. В большинстве случаев РИД совпадает с классическими серологическими реакциями в титрах РА 200-400 МЕ и РСК 1:20 и выше. Процент положительно реагирующих в РИД колебался от 2,5 (с. Октябрьское Прикубанского района) до 12,6 (КФХ «Мамлюк» Хабезского района). Разрешающая способность РА, РСК и РИД составила 16,9%, 59,5% и 23,6% соответственно (см. рис.1).

Таким образом, имеющийся опыт убедительно показал, что по отношению к серологическому тесту РА+РСК чувствительность РИД в естественном очаге бруцеллезной инфекции меньше в 3,3 раза, в условиях благополучия хозяйств – в 8,6 раза. Показания классических реакций РА+РСК в высоких титрах являются показателями бруцеллезного инфекционного процесса, а не поствакцинальными последствиями применения превентивной вакцинации. С помощью РИД ни в одном случае не было выявлено ни одного зараженного бруцеллезом животного дополнительно.

Считаем необходимым отразить практические наблюдения, полученные в ходе многолетних исследований. Согласно нормативных документов по постановке и учету реакции иммунодиффузии с О-полисахаридным антигеном, чашки Петри (стекла) после внесения компонентов реакции, помещают во влажную камеру (эксикатор) при температуре +18–24°С; учет результатов проводят визуально через 24 и 48 часов после постановки реакции. Результаты наших исследований совпадают с этими требованиями. Для полного выявления реагирующих животных в РИД необходимо проводить двукратный учет реакции: на 24-й и 48-й час с момента ее постановки, при этом необходимо строго соблюдать температурный режим. Результаты проведенных нами исследований согласуются с выводами ученых [4].

Таким образом, отрицательная РИД является стабильным показателем благополучия поголовья по бруцеллезу крупного рогатого скота, положительная РИД позволяет оценить эпизоотическую активность очага болезни даже при однократном исследовании.

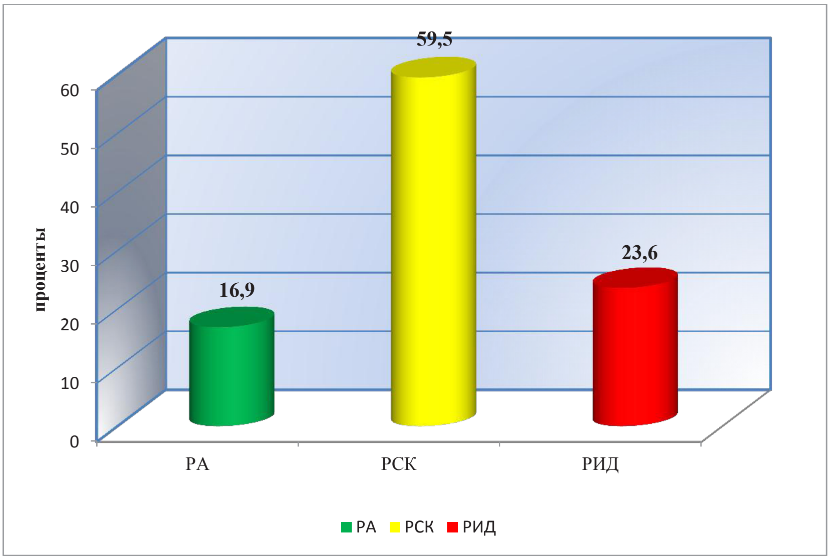

Рисунок 1 – Разрешающая способность серологических реакций при бруцеллезе в неблагополучном очаге.

Резюме: подтверждена актуальность серологической диагностики бруцеллеза у крупного рогатого скота в РИД с О-полисахаридным антигеном в условиях Карачаево-Черкесской Республики. Тест позволяет оценить эпизоотическую ситуацию в стаде, хозяйстве даже при однократном исследовании, повысить качество контроля инфекции среди иммунизированных и не иммунизированных животных.

SUMMARY

confirmed the relevance of the serologic diagnostic of brucellosis in cattle in the AGID with O-polysaccharide antigen in the conditions of Karachay-Cherkess Republic. The test allows assessing the epizootic situation in the herd, farm sector, even in a single study, improving the quality of control of infection among vaccinated and not vaccinated animals.

Keywords: brucellosis, cattle, AGID, serological diagnostic, Karachay-Cherkess Republic.

Литература

1. Димов, С. К. Теория и практика управления эпизоотическим процессом бруцеллеза : автореф. дис. ... д-ра вет. наук / С. К. Димов. – Новосибирск, 1993. – 44 с.

2. Дмитриев, А. Ф. Рекомендации по оздоровлению от хронических инфекционных заболеваний крупного рогатого скота в целях повышения сохранности животных и увеличения объемов мясной и молочной продукции : метод. рекомендации / А. Ф. Дмитриев [и др.] – Ставрополь : АГРУС, 2011. – 36 с.

3. Малышева, Л. А. Иммунологический скрининг при бруцеллезе и разрешающая способность основных серологических реакций при диагностике заболевания / Л. А. Малышева, Т. Н. Щебетовская, Б. Н. Ромахов // Развитие инновационного потенциала агропромышленного производства, науки и аграрного образования / ДонГАУ. – пос. Персиановский, 2009. – Т. 3. – С. 18–21.

4. Морозова, Н. А. Значение РИД с О-полисахаридным антигеном при поствакцинальной диагностике бруцеллеза овец : автореф. дис. ... канд. вет. наук / Н. А. Морозова. – Новосибирск, 2002. – 21 с.

5. Сайченко, В.И. Эпизоотологический мониторинг при бруцеллезе крупного рогатого скота на территории с широким применением вакцин : дис. ... канд. вет. наук / В. И. Сайченко. – Новосибирск., 1995. – 180 с.

6. Дифференциация вакцинированных и больных бруцеллезом животных / В. М. Чекишев [и др.] // Ветеринария. – 1993. – № 8. – С. 25–29.

Контактная информации об авторах для переписки

Нурлыгаянова Гульнара Ахметовна, соискатель Ставропольского аграрного университета, заведующая отделом серологии Карачаево-Черкесской республиканской ветеринарной лаборатории (РГБУ «КЧР ветлаборатория»), gulia-nur@yandex.ru

ЮЖНО-РОССИЙСКИЙ
МЕЖДУНАРОДНЫЙ
ВЕТЕРИНАРНЫЙ
КОНГРЕСС

26-27 сентября 2013 г.
г.Ростов-на-Дону
www.vetcongress.org